カタログ番号 732-6120

Quantum Prep Plasmid Midi Prep Kit

所要時間 約45分

あらかじめWash Bufferには90−100%EtOHを1：1になるように（125ml）加えておきます。

■キット構成内容：

- Cell Resuspension Solution ……110ml
- Cell Lysis Solution ……110ml
- Neutralization Solution ……110ml
- Quantum Prep Matrix ……20ml
- Wash Buffer ……125ml
- Spin Columns and caps ……20本
- 2ml Microcentrifuge tubes ……40本

■キット以外に必要な試薬： 90−100%エタノール／TEもしくは滅菌済超純水

操 作 手 順

集 菌

培養液40mlを5min遠心（3000×g）集菌する

再懸濁

← **Cell Resuspension Solution 5ml**よく懸濁

アルカリ溶菌

← **Cell Lysis Solution 5ml** ゆるやかに懸濁

中 和

← **Neutralization Solution 5ml** ゆるやかに懸濁

遠心 7500×g 10min

上清（プラスミドが含まれる）を新しいチューブへ回収

吸 着

← **Quantum Matrix 1ml** を加える

← 15〜30secゆるやかに懸濁

遠心 7500×g 2min

洗 浄

上清廃棄

← **Wash Buffer 10ml**

遠心 12-14000×g 2min

上清廃棄

← **Wash Buffer 600μl**

スピンカラムに懸濁液を移す

遠心 12-14000×g 30sec

流出液廃棄

← **Wash Buffer 500μl**

遠心 12-14000×g 30sec

スピンカラムを新しいチューブへ移す

溶 出

← **滅菌水またはTE 600μl**

遠心 12-14000×g 2min

精製プラスミドDNA

ポイント

- 培養液はLBをはじめ2×YT、TBのような濃厚培地も使用できる。
- 溶液に沈殿を生じている場合は37℃で溶解する。
- この3工程は速やかに次の工程に移る
- Cell lysis, Neutralization Solutionを加えた後は、チューブを数回逆さにすることによって懸濁する。激しく懸濁するとタンパクやゲノムDNAのコンタミの原因となる。
- 沈殿物が入らないように注意。
- ボトル内のQuantum Matrixを完全に懸濁しておく。
- スピンカラムのスナップオフチップを折り、2mlチューブに入れる。
- スピンカラムに入りきらない場合は2回に分けて入れて下さい。
- 完全にWash Bufferを除去する。
- Matrixの表面が斜めになっている場合はMatrixの層の厚い部分から加える。
- 70℃に温めて溶出することによりよい収率が得られる。

※詳細は英文取扱説明書を参照してください。

BIO-RAD